

# 2 × Taq Plus Master Mix

P211/P212

Version 21.1



## 产品概述

本产品包含Taq Plus DNA Polymerase、dNTP以及优化的缓冲体系，适用于高产量PCR反应。相比于普通PCR，具有更高的保真度、更强的扩增性能和产量，可用于10 kb以内以基因组为模板的PCR扩增以及15 kb以内以质粒和λDNA为模板的PCR扩增。预先配制的2 × Master Mix用于PCR反应时只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重现性。体系中加入的保护剂使得2 × Master Mix反复冻融后仍可保持稳定的活性。本品提供含有电泳缓冲液和染料的本，可在反应结束后直接进行电泳，使用方便。PCR产物的3'端带A，可直接克隆至T载体，并适用于ClonExpress和拓扑克隆试剂盒 (Vazyme #C112/C113/C115/C601)。

## 产品组分

组 分	P211-01	P211-02	P211-03
2 × Taq Plus Master Mix	5 × 1 ml	15 × 1 ml	50 × 1 ml

  

组 分	P212-01	P212-02	P212-03
2 × Taq Plus Master Mix (Dye Plus)	5 × 1 ml	15 × 1 ml	50 × 1 ml

## 保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输。

## 适用范围

本产品广泛适用于动物，植物以及微生物等DNA的扩增反应。

## 质量控制

核酸内切酶残留检测：20 μl本品和0.3 μg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4 h，DNA的电泳谱带不发生变化。

功能检测：50 μl PCR体系中加入25 μl本品，分别以100 ng人基因组DNA、50 ng HeLa细胞总RNA对应的cDNA和5 ng λDNA为模板，扩增长度分别为5 - 15 kb的5个不同目的片段，延伸时间设置为1 min/kb。35个循环后将1/10 PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳，EB染色，可见有单一的相应条带。

## 注意事项

### 引物设计

1. 引物3'端最后一个碱基最好为G或者C；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端应避免出现发夹结构；
4. 正向引物和反向引物的Tm值相差不超过1°C为佳，Tm值调整至55 ~ 65°C为佳(引物Tm值推荐使用Primer Premier 5进行计算)；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物Tm值计算；
6. 引物的GC含量控制在40% - 60%之间；
7. 引物A、G、C、T整体分布要尽量均匀，避免使用GC或者AT含量高的区域；
8. 引物内部或者两条引物之间避免有5个碱基以上的互补序列，两条引物的3'端避免有3个碱基以上的互补序列；
9. 引物设计完毕请使用NCBI BLAST功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

## 实验流程

### 反应体系

ddH <sub>2</sub> O	To 50 µl
2 × Taq Plus Master Mix	25 µl
Primer1 (10 µM)	2 µl
Primer2 (10 µM)	2 µl
Template DNA*	x µl

\* 不同模板最佳反应浓度不同，下表为50 µl反应体系推荐模板使用量：

动植物基因组DNA	0.1 - 1 µg
大肠杆菌基因组DNA	10 - 100 ng
cDNA	1 - 5 µl (不超过PCR反应总体积的1/10)
质粒DNA	0.1 - 10 ng
λDNA	0.5 - 10 ng

### 反应程序

95°C	3 min (预变性) <sup>a</sup>	} 30 - 35 cycles
95°C	15 sec	
60°C <sup>b</sup>	15 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	5 min (彻底延伸)	

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，可根据模板结构复杂程度调整。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至5 - 10 min以提高预变性效果。

b. 退火温度需要根据引物的T<sub>m</sub>值进行调整，一般设置成低于引物T<sub>m</sub>值3 ~ 5°C即可；对于复杂模板，需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

## 常见问题与解决方案

	无产物或产物量少	有杂带或弥散条带
引物	优化引物设计	优化引物设计
退火温度	设置退火温度梯度，找到合适的退火温度	尝试提高退火温度，可间隔2°C设置温度至65°C
引物浓度	适当提高引物浓度	降低引物浓度至终浓度为0.2 µM
延伸时间	适当增加延伸时间	有大于目标条带的杂带时可减少延伸时间
循环数	增加循环数至35 - 40个循环	减少循环数至25 - 30个循环
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板使用量	粗提样品可能需要减少使用量；其他样品使用量参照反应体系推荐量并适量增加	使用量参照反应体系推荐量调整

\*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。